

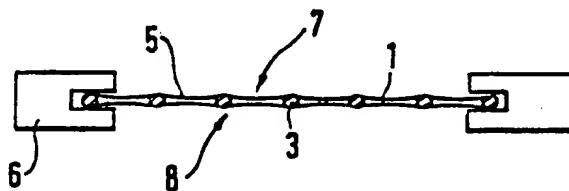


PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 : G01N 33/52	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/15879 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 17. September 1992 (17.09.92)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE92/00154 (22) Internationales Anmeldedatum: 26. Februar 1992 (26.02.92) (30) Prioritätsdaten: P 41 06 293.0 28. Februar 1991 (28.02.91) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BOEHRINGER MANNHEIM GMBH [DE/DE]; Sandhofer Straße 116, D-6800 Mannheim 31 (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : FREY, Günter [DE/DE]; Pfalzgrafenstraße 7, D-6701 Ellerstadt (DE). HORN, Doris [DE/DE]; Danzigerstraße 13, D-6834 Ketsch (DE).		(74) Anwalt: PFEIFER, Hans-Peter; Nowackanlage 15, D-7500 Karlsruhe 1 (DE). (81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), MC (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US. Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>

(54) Title: TEST CARRIER FOR DETERMINING AN ANALYTE IN WHOLE BLOOD

(54) Bezeichnung: TESTTRÄGER ZUR BESTIMMUNG EINES ANALYTEN AUS VOLLBLUT



(57) Abstract

A test carrier for determining an analyte in whole blood comprises a test field containing a reagent system. The test field has a sample feed side on which the blood sample is placed and a detection side on which the analysis reaction gives rise to an optically detectable change. The test field is so designed that the red blood corpuscles cannot pass from the sample feed side to the detection side and it contains pigment particles which optically block the red blood pigment. To ensure reliable separation of blood pigment, the test field (5) has a combined blood pigment removal and indication layer (1) which combines, in a single, very thin, homogeneous layer, the functions of separation of the red blood corpuscles and optical indication. The layer (1), is formed from a dispersion or an emulsion of a polymer film former in which the pigment, the polymer film former, the colour-forming reagent of the reagent system and a swelling agent are uniformly distributed.

(57) Zusammenfassung

Testträger zur Bestimmung eines Analyten aus Vollblut. Er enthält in einem Testfeld ein Reagenssystem. Das Testfeld hat eine Probenaufgabeseite, auf der Blutprobe zugeführt wird und eine Nachweiseseite, auf der infolge der Analysereaktion eine optisch nachweisbare Veränderung stattfindet. Es ist so ausgebildet, daß die roten Blutkörperchen nicht von der Probenaufgabeseite auf die Nachweiseseite gelangen können und es enthält Pigmentpartikel zur optischen Blockierung des roten Blutfarbstoffes. Eine zuverlässige Blutfarbstoffabtrennung bei einfacher Herstellung wird erreicht, indem das Testfeld (5) eine kombinierte Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweissschicht (1) aufweist, die in einer einzigen sehr dünnen homogenen Schicht die Funktionen der Abtrennung der roten Blutkörperchen und des optischen Nachweises erfüllt. Sie ist aus einer Dispersion oder einer Emulsion eines polymeren Filmbildners gebildet, welche in homogener Verteilung das Pigment, den polymeren Filmbildner, das Farbbildungsreagens des Reagenssystems und ein Quellmittel enthält.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	MI	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MN	Mongolei
BB	Barbados	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BE	Belgien	GA	Gabon	MW	Malawi
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BG	Bulgarien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BJ	Benin	GR	Griechenland	PL	Polen
BR	Brasilien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SN	Senegal
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SU	Sowjet Union
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TC	Togo
DE	Deutschland	MC	Monaco	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

Testträger zur Bestimmung eines Analyten aus Vollblut

Die Erfindung betrifft ein Testfeld für einen Testträger zur Bestimmung eines Analyten aus Vollblut mit Hilfe eines in dem Testträger enthaltenen Reagenzsystems, welches ein Farbbildungsreagenz einschließt, mit einem Testfeld, welches eine Probenaufgabeseite, der die Blutprobe zugeführt wird und eine Nachweiseite, auf der infolge der Reaktion des Analyten mit dem Reagenzsystem eine optisch nachweisbare Veränderung stattfindet, aufweist, wobei das Testfeld so ausgebildet ist, daß in der Probe enthaltende Erythrozyten nicht auf die Nachweiseite gelangen.

Zur qualitativen oder quantitativen analytischen Bestimmung von Bestandteilen von Blut wird n zunehmend sogenannte trägergebundene Tests verwendet. Bei diesen ist ein Reagenzsystem in mindestens ein m aus ein r oder mehreren Schichten bestehenden Testfeld eines festen Testträgers eingebettet, das mit der Probe in Kontakt ge-

bracht wird. Die Reaktion von Probe und Reagenzsystem führt zu einer optisch nachweisbaren Veränderung, insbesondere einem Farbumschlag, welcher visuell oder mit Hilfe eines Gerätes, meist reflexionsphotometrisch ausgewertet werden kann. Statt zu einem Farbumschlag kann die Reaktion auch zum Entstehen oder zur Veränderung eines anderen optisch nachweisbaren Signals führen, beispielsweise eine Fluoreszenz oder einer Lumineszenz.

Testträger (welche in der angelsächsischen Literatur vielfach auch als "solid reagent analysis elements" bezeichnet werden) sind häufig als Teststreifen ausgebildet, die im wesentlichen aus einer länglichen Tragschicht aus Kunststoffmaterial und einem oder mehreren darauf angebrachten Testfeldern bestehen. Es sind jedoch auch Testträger bekannt, bei denen ein Testfeld von einem Rahmen aus Kunststoff ähnlich einem Diapositiv umgeben ist.

Trägergebundene Tests zeichnen sich insbesondere durch ihre einfache Handhabung aus. Um so bedauerlicher ist es, daß bei den meisten bisher bekannten Testträgern das Blut nicht unmittelbar als Vollblut verwendet werden kann. Es ist vielmehr erforderlich, die roten Blutkörperchen (Erythrozyten) abzutrennen, um farbloses Plasma bzw. Serum zu gewinnen. Dies geschieht üblicherweise durch Zentrifugieren. Damit ist jedoch ein zusätzlicher Handhabungsschritt verbunden, der eine verhältnismäßig große Blutmenge und aufwendige Apparatur erfordert.

Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, Testträger zur Verfügung zu stellen, welche analytische Bestimmungen unmittelbar aus Blut ermöglichen. Dabei kann man zwei grundsätzlich verschiedene Lösungsmöglichkeiten unterscheiden.

Bei dem ersten Lösungsansatz erfolgt die visuelle oder apparative Auswertung des Farbumschlags auf der gleichen Seite des Testfeldes, auf die auch die Probe aufgegeben wird. Dabei ist das Testfeld so aufgebaut, daß der Analyt aus der Probe durch die Testfeldoberfläche zu den Reagenzien gelangt, während die Erythrozyten zurückgehalten werden. Nach einer definierten Zeit wird die Blutprobe von der Testfeldoberfläche abgewischt oder abgewaschen und der Farbumschlag beobachtet. Beispiele solcher Testträger sind in der US-A-3 630 957 und in der EP-B-130 335 und der EP-A-0 217 246 beschrieben.

Bei dem zweiten Lösungsansatz wird die Probe auf der einen Seite des Testfeldes aufgegeben (Probenaufgabeseite) und der Farbumschlag auf der anderen Seite (Nachweisseite) registriert. Ein wesentlicher Vorteil dieser Verfahrensweise besteht darin, daß das Blut nicht abgewischt oder abgewaschen werden muß. Man bezeichnet solche Testträger deswegen auch als nicht abzuwischende Testträger (non wipe test carriers).

Mit dem Abwischen entfällt nicht nur ein lästiger Handhabungsschritt, sondern auch eine mögliche Fehlerquelle, die daraus resultieren kann, daß der Zeitpunkt, zu dem Blut entfernt werden muß, nicht genau eingehalten wird. Andererseits ist dieser Lösungsansatz besonders schwer zu realisieren. Erforderlich ist ein Erythrozyten- bzw. Blutfarbstofffilter, der einerseits die intensiv färbenden Bestandteile des Blutes zuverlässig zurückhält, andererseits den Analyt vollständig und ausreichend schnell passieren läßt. Es erweist sich als außerordentlich schwierig, einen Testfeldaufbau zu finden, der diese Anforderungen erfüllt.

In der US-A-36 63 374 und in der US-A-42 56 693 wird ein Membranfilter eingesetzt. Zwar sind Membranfilter für das Abfiltern von Erythrozyten grundsätzlich geeignet, ihre Verwendung in Testträgern hat sich jedoch nicht bewährt. Das gleiche gilt für die ebenfalls in diesen US-Patenten erwähnte Kombination des Membranfilters mit einer Glasfaserschicht, welche das Verstopfen des Membranfilters mit größeren Teilchen verhindern soll. Die Herstellung derartiger Testträger wäre sehr aufwendig, ohne daß eine befriedigende Funktion erreicht wird.

In der US-A-4 069 017 und mehreren US-Patenten der gleichen Anmelderin wird ebenfalls die Möglichkeit angesprochen, in einem Testträger eine den Durchtritt von Erythrozyten verhindernde Zwischenschicht vorzusehen, welche zugleich strahlenblockierende Bestandteile enthält, um sicherzustellen, daß die Lichtstrahlen des Auswertegerätes nicht in die erythrozytenhaltige Schicht vordringen können. In dieser Schrift sind jedoch keine Angaben enthalten, wie die Zwischenschicht im einzelnen aufgebaut sein könnte, um die Filterung der Erythrozyten zu erreichen.

Die US-A-4 824 639 beschreibt die Verwendung einer asymmetrischen Membran, wie sie für technische Trennverfahren (umgekehrte Osmose) bekannt ist, für die Zwecke der Erythrozytenabtrennung. Die Membran wird in einem Koagulationsverfahren durch Eintauchen einer teilweise oder vollständig gelierten Schicht in ein Koagulationsbad hergestellt und kann auch Reagenzien enthalten. Dabei soll die optische Auswertung sowohl von der Blutaufgabeseite her (nach Abwischen) als auch von der gegenüberliegenden Seite her möglich sein.

In der EP-A-0 302 287 ist ein Testfeld dargestellt, welches einen Schichtverbund aufweist, der durch Flüssigbeschichten einer das Farbbildungsreagenz enthaltenden Nachweisschicht auf eine der Probenaufgabeseite zugewandte Basisschicht hergestellt ist. Die Basisschicht enthält einen polymeren Filmbildner, Kieselgur und ein Pigment. Die Nachweisschicht enthält einen polymeren Filmbildner, welcher beim Flüssigbeschichten teilweise in die Basisschicht eindringt und eine Übergangszone bildet, in der die Erythrozyten zurückgehalten werden.

Das durch die Farbstoff-Bestandteile des Blutes verursachte Problem wird noch zusätzlich dadurch verschärft, daß das üblicherweise verwendete, durch Einstich in die Haut gewonnene Kapillarblut wegen der damit verbundenen mechanischen Beanspruchung unvermeidlich teilweise hämolytiert ist, d.h. es enthält aus zerstörten Erythrozyten frei gewordenen Blutfarbstoff. Obwohl der Hämolyseanteil im allgemeinen unter 0,1 % liegt, verursacht der freie Blutfarbstoff wegen seiner intensiven Farbe selbst dann noch Meßungenauigkeiten, wenn die Erythrozyten vollständig abgetrennt wurden.

Da keine der vorbekannten Realisierungen eines NW-Testträgers mit Erythrozytenabtrennung in jeder Hinsicht befriedigende Eigenschaften aufweist, wurde bei einer im Handel befindlichen Realisierung eines solchen Testträgers auf die Abtrennung der Erythrozyten vollständig verzichtet und die Störung durch die intensive Rotfärbung meßtechnisch mit Hilfe einer Messung bei zwei verschiedenen Wellenlängen kompensiert. Dies beeinträchtigt jedoch die Meßgenauigkeit, weil die dunkle Blutfarbe den Signalhub, d.h. die Differenz der gemessenen diffusen Reflexion innerhalb des Meßbereiches des Tests wesentlich (etwa auf die Hälfte) vermindert. Außerdem wird der Auf-

wand für die apparative Auswertung stark erhöht und es ist keine visuelle Kontrolle des Farbumschlags möglich.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Testfeld für einen NW-Testträger zur Verfügung zu stellen, welches eine zuverlässige Abtrennung des Blutfarbstoffs und eine schnelle und intensive Bildung des optischen Nachweissignals (und demzufolge eine hohe Meßgenauigkeit) ermöglicht. Zugleich soll es möglichst einfach herzustellen sein.

Die Aufgabe wird bei einem Testfeld der eingangs bezeichneten Art dadurch gelöst, daß es eine kombinierte Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht aufweist, welche aus einer Dispersion oder Emulsion eines polymeren Filmbildners gebildet ist, die in homogener Verteilung ein Pigment in einer Konzentration von mindestens 30 Gew.-%, bezogen auf den Feststoffgehalt der filmbildenden Masse, den polymeren Filmbildner, das Farbbildungsreagenz und ein Quellmittel enthält, wobei die Quellfähigkeit des Quellmittels so hoch ist, daß die optisch nachweisbare Veränderung auf der Nachweisseite nach maximal einer Minute meßbar ist.

Dispersionsfilmbildner enthalten mikroskopische, in der Trägerflüssigkeit (meist Wasser) unlösliche Polymerteilchen, welche in feinster Verteilung in der Trägerflüssigkeit dispergiert sind. Wird bei der Filmbildung die Flüssigkeit durch Verdampfen entfernt, so nähern sich die Teilchen und berühren sich schließlich. Durch die dabei auftretenden großen Kräfte und einen mit der Filmbildung einhergehenden Gewinn an Oberflächenenergie wachsen die Teilchen zu einer weitgehend geschlossenen Filmschicht zusammen. Nähere Einzelheiten hierzu sind beispielsweise

dem Artikel "Latex film formation" von J.W. Vanderhoff in Polymer News 1977, Seite 194 bis 203, zu entnehmen.

Alternativ kann auch eine Emulsion des Filmbildners verwendet werden, bei der dieser in einem Lösungsmittel gelöst ist. Das gelöste Polymer ist in einer Trägerflüssigkeit emulgiert, die mit dem Lösungsmittel nicht mischbar ist.

Als Polymere für solche Filmbildner eignen sich insbesondere Polyvinylester, Polyvinylacetate, Polyacrylester, Polymethylacrylsäure, Polyvinylamide, Polyamide und Polystyrol. Neben Homopolymeren sind auch Mischpolymerisate z.B. von Butadien, Styrol oder Maleinsäureester geeignet.

Der mittlere Partikeldurchmesser der Pigmentpartikel liegt vorzugsweise zwischen 0,2 und 1 μm . Titandioxid ist ein weit verbreitetes und auch für die Erfindung besonders geeignetes Pigment.

Die Eigenschaften der Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht hängen selbstverständlich nicht nur von dem Filmbildner, dem Pigment und dem Quellmittel ab, sondern auch von den in dieser Schicht enthaltenen Bestandteilen der Testrezeptur. Diese umfaßt neben dem eigentlichen Reagenzsystem meist auch Hilfsstoffe, wie zum Beispiel Detergentien, Puffer und Schutzkolloide.

Infolge dieser Vielfalt möglicher Varianten ist es nicht möglich, universelle Regeln anzugeben, wie die schichtbildende Masse, aus der die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht gebildet wird, quantitativ zusammengesetzt sein soll. Der Fachmann kann auf Basis der hier gegebenen Informationen die Eignung einer gewählten Zusam-

mensetzung jedoch ohne weiteres testen und die Rezeptur der schichtbildenden Masse gezielt optimieren.

Der Pigmentanteil liegt mit mindestens 30 Gew-%, bevorzugt mindestens 40 Gew-%, bezogen auf den gesamten Feststoffgehalt der schichtbildenden Masse ungewöhnlich hoch. Dadurch ergeben sich selbst bei einer extrem dünnen Schichtdicke der Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht gute strahlungsblockierende Eigenschaften, d.h. die rote Farbe auf der Probenaufgabeseite stört die optische Auswertung nicht.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß man durch Zugabe eines gut quellenden Quellmittels (d.h. einer Substanz, die unter Aufnahme von Wasser ihr Volumen vergrößert) nicht nur eine Schicht erhält, die relativ schnell von der Probenflüssigkeit penetriert wird, sondern trotz dieser Öffnungswirkung des Quellmittels gute Blutfarbstoffabtrenneigenschaften resultieren. Die erforderliche Qualität und Menge des Quellmittels läßt sich auf Basis der hier gegebenen Erläuterungen empirisch für die jeweilige Schichtzusammensetzung festlegen. Die Quelleigenschaften sollten jedenfalls mindestens so gut sein, daß für einen Test, bei dem die Geschwindigkeit der Farbbildung - wie beispielsweise bei der üblichen Glucosenachweisreaktion - überwiegend von der Penetration der Probenflüssigkeit durch die Schicht abhängt, die optisch nachweisbare Reaktion nach maximal einer Minute meßbar ist.

Als besonders geeignetes Quellmittel hat sich Methylvinylethermaleinsäureanhydrid-Copolymer erwiesen.

Aus d n im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung durchgeführten Experimenten läßt sich ableiten, daß Filmbildner und Pigment in einem annähernd gleichen Gewichts-

verhältnis zueinander stehen sollten. Je nach den Umständen des Einzelfalls erweisen sich Gewichtsrelationen des Filmbildners zu dem Pigment zwischen 1:10 und 2:1 als bevorzugt.

Im Regelfall ist es vorteilhaft, wenn der Gesamtanteil der Summe von Filmbildner und Pigment am Feststoffgehalt der schichtbildenden Masse relativ hoch (meist über 70%) ist. Im Zusammenhang mit Rezepturen, die wegen Besonderheiten der Analysereaktion einen ungewöhnlich hohen Gewichtsanteil des Reagenzsystems erfordern, wurde jedoch auch mit einem Gesamtfeststoffgehalt von Filmbildner und Pigment von 40%, bezogen auf den Feststoffgehalt der filmbildenden Masse, positive Ergebnisse erzielt. Inerte anorganische Partikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser von erheblich mehr als 1 μ , die keine oder schlechte Pigmenteigenschaften haben, wie beispielsweise Kieselgur (Diatomeenerde) sollten nicht oder nur in einer sehr geringen Konzentration von weniger als 10 % in der filmbildenden Masse enthalten sein.

Die Herstellung der kombinierten Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht aus einer homogenen Dispersion der genannten Bestandteile führt zu einer praktisch homogenen Schichtstruktur. Hierdurch unterscheidet sich die erfindungsgemäße Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht grundsätzlich von der asymmetrischen Membran gemäß der eingangs erwähnten US-A-4 824 639.

Wesentlich ist, daß die kombinierte Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht außerordentlich dünn ist. Bevorzugt liegt die mittlere Trockenschichtdicke unter 0,05 mm, besonders bevorzugt unter 0,025 mm, ganz besonders bevorzugt unter 0,015 mm.

Neben der einfachen Handhabung zeichnet sich der erfindungsgemäße Testträger durch eine extrem kurze Reaktionszeit und intensive Farbbildung aus. Außerdem ist das Testfeld selbstdosierend. Es nimmt aus einer im Überschuß (zum Beispiel zwischen 5 μ l und 50 μ l) aufgetragenen Probe nur eine reproduzierbare Teilmenge (zum Beispiel 2 μ l) auf.

Die Erfindung stellt eine grundsätzliche Abkehr von den bisher vorgeschlagenen NW-Testfeldern dar. Während bei den bisherigen Versuchen das Testfeld meist aus einem Schichtverbund bestand, der getrennte Schichten oder Zonen enthielt, von denen eine der Abtrennung der Erythrozyten und eine andere dem Nachweis durch eine Farbbildungsreaktion diente, werden erfindungsgemäß beide Funktionen in einer einzigen homogen zusammengesetzten Schicht, nämlich der Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht, zusammengefaßt. Bevorzugt besteht das Testfeld nur aus der Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht. Da diese extrem dünn ist und nur wenig Flüssigkeit aufnimmt, kann mit einer extrem kleinen Blutprobe gearbeitet werden. In Ausnahmefällen kann jedoch die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht mit anderen Testschichten kombiniert werden, beispielsweise einer auf der Probenaufgabeseite vorgelagerten Schicht, die eine laterale Ausbreitung bewirkt (spreading layer) oder eine Reagenzschicht, welche Reagenzien enthält, die mit den in der Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht enthaltenen Reagenzien nicht verträglich sind.

Die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht kann mit ihrer Nachweisseite auf einer durchsichtigen Trägerfolie angebracht sein. Gemäß einer besonders vorteilhaften Alternative ist sie jedoch in eine offenporige Faserverbundstruktur imprägniert.

Gemäß einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform kann die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht auf einer mikroporösen Kunststoffschicht (Membran) durch unmittelbares Beschichten der Membran angebracht sein. Als besonders günstig hat sich dabei die Kombination der Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht mit einer asymmetrischen Membran erwiesen, die ihrerseits Erythrozytenabtrenneigenschaften hat. Derartige Membranen werden in neuerer Zeit für verschiedene Filtrationszwecke angeboten. Ein Überblick ist beispielsweise dem Artikel "The Structure and Some Properties of Graded Highly Asymmetrical Porous Membranes" von W. Wrasidlo und K.J. Mysels, Journal of Parenteral Science and Technology, 1984, Seite 24 bis 31, zu entnehmen. Von besonderem Vorteil ist dabei die Tatsache, daß die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht nicht nur Blutkörperchen abtrennt, sondern auch eine wirksame Abtrennung des Blutfarbstoffes, soweit dieser in praktisch vorkommenden Konzentrationen vorliegt, bewirkt. Experimentell wurde festgestellt, daß die erfindungsgemäße Schicht geeignet ist, selbst Proben mit einem Hämolyseanteil von bis zu 0,5 % zu verarbeiten. Dieser Wert liegt mit gutem Sicherheitsabstand über den in der Praxis vorkommenden Hämolysewerten von maximal etwa 0,1 %. Wenn man aus Blut mit einem Hämolyseanteil von 0,5 % die Blutkörperchen vollständig abtrennt, ist das resultierende Serum immer noch stark rot gefärbt. Wenn man jedoch ein solches Serum von der Probenaufgabeseite her auf eine erfindungsgemäße Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht aufgibt, wird der Blutfarbstoff so vollständig abgetrennt, daß die analytische Messung auf der Auswerteseite innerhalb der Meßgenauigkeit davon praktisch nicht beeinträchtigt wird.

Die Erfindung wird im folgenden anhand eines in den Figuren schematisch dargestellten Ausführungsbeispiels näher erläutert; es zeigen:

- Fig. 1 eine stark vergrößerte Prinzipdarstellung eines Querschnitts durch eine für die Erfindung geeignete Testfeldstruktur im nassen Zustand,
- Fig. 2 eine stark vergrößerte Prinzipdarstellung eines Querschnitts eines erfindungsgemäßen Testträgers,
- Fig. 3 eine Aufsicht auf eine für die Erfindung geeignete Faserverbundstruktur nach einer elektronenmikroskopischen Aufnahme,
- Fig. 4 und Fig. 5 eine stark vergrößerte Prinzipdarstellungen eines Querschnittes alternativer Ausführungsformen von Testfeldern,
- Fig. 6 mehrere Spektren zu einem der Beispiele,
- Fig. 7 eine graphische Darstellung zur Erläuterung des Einflusses der Zusammensetzung der schichtbildenden Masse bei einem der Beispiele.

Figuren 1 und 2 zeigen im Querschnitt ein Testfeldmaterial, bei dem die Erythrozytenabrenn- und Nachweisschicht 1 in eine Faserverbundstruktur 2 imprägniert ist. Der Begriff "Faserverbundstruktur" bezeichnet dabei jeden Verbund von Fäden oder Fasern, der die für die Erfindung erforderlichen Eigenschaften, nämlich eine sehr geringe Dicke (maximal 0,1 mm, bevorzugt 0,02 bis 0,06 mm) und eine ausreichende Offenporigkeit, aufweist. Der Faserverbund kann vorzugsweise ein Gewebe oder ein Gewirke sein. Auch ein sehr dünnes und lockeres Vlies kann verwendet werden, ist jedoch weniger bevorzugt.

Die Faserverbundstruktur kann aus monofil n Fäden oder aus multifilen (d.h. aus vielen Einzelfäden bestehenden

und gezwirnten) Fasern bestehen, wobei sich die monofilen Fäden besonders bewährt haben.

Fig. 3 zeigt die typische Struktur eines für die Erfindung geeigneten monofilen Gewebes. Die Fäden 3 haben eine lockere, gitterförmige Struktur mit offenen Poren 4. Die Porengröße A sollte zwischen 0,02 und 0,06 mm, vorzugsweise zwischen 0,03 und 0,04 mm liegen. Im dargestellten Fall quadratischer Poren bezeichnet der Begriff Porengröße deren Kantenlänge. Bei einer von der quadratischen Form abweichenden Porenform ist die Porengröße als Quadratwurzel aus dem mittleren Porenquerschnitt definiert.

Die Dicke B der Fäden, aus denen die Faserverbundstruktur gebildet ist, liegt vorzugsweise zwischen 0,02 und 0,06 mm, besonders bevorzugt zwischen 0,03 und 0,04 mm. Als Fadenmaterial hat sich Polyethylen bewährt. Es sind jedoch auch andere Materialien geeignet.

Wie erwähnt, besteht das Testfeld eines erfindungsgemäßen Testträgers vorzugsweise nur aus der auf einem Trägermaterial aufgetragenen Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht. Ein solcher Testträger ist in Fig. 2 schematisch dargestellt. Das insgesamt mit 5 bezeichnete Testfeld wird von einem Rahmen 6 gehalten. Die Probe wird von der Probenaufgabeseite 7 her aufgegeben. Die optische Auswertung erfolgt auf der Nachweisseite 8.

Die dargestellte Struktur einer Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht, welche in eine offenporige Faserverbundstruktur imprägniert ist, zeichnet sich vor allem dadurch aus, daß sie selbsttragend ist, d.h. es ist keine durchsichtige Trägerfolie als Unterlage erforderlich. Dabei ist jedoch wichtig, daß die Poren der Faserverbundstruktur so vollständig geschlossen sind, daß das auf der Pro-

benaufragabeseite 7 aufgegebene Blut nicht durch kleine Spalten oder Risse auf die Nachweisseite 8 gelangen kann, weil durch die intensive Rotfärbung des Blutes schon relativ geringe Mengen das Ergebnis der optischen Messung verfälschen.

Um dies zu gewährleisten ist es vorteilhaft, wenn bei der Herstellung des Testfeldmaterials die Substanzen, aus denen die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht besteht, zu einer schichtbildenden Imprägniermasse verarbeitet werden, welche in eine Bahn aus Trägermaterial, die aus der offenporigen Faserverbundstruktur besteht, derartig imprägniert wird, daß die Imprägniermasse in die Poren des Trägermaterial weitgehend eindringt. Die Imprägniermasse wird dann mit Hilfe eines Abstreifwerkzeuges glattgestrichen. Danach wird die Testfeldmaterialbahn berührungsfrei getrocknet.

Insgesamt wird die Imprägniermasse so aufgetragen, daß die Hohlräume des Trägermaterials praktisch vollständig gefüllt und die Fäden beidseitig dünn mit Imprägniermasse bedeckt sind. Der Zustand nach dem Glattstreichen ist in Fig. 1 stark schematisiert dargestellt.

Durch den Trocknungsvorgang verringert sich die Schichtdicke der Imprägniermasse. Dadurch entsteht eine charakteristische Struktur, bei der die Oberfläche der Testschicht zwischen den Fäden leicht konkav gekrümmt ist, wie dies in Fig. 2 angedeutet ist.

Eine in eine Faserverbundstruktur imprägnierte Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht, wie sie anhand der Figuren 1 bis 3 erläutert wurde, ist vor allem dann bevorzugt, wenn ein selbsttragendes Testschichtmaterial gewünscht wird, bei dem die Schicht beidseitig mit der

Umgebungsluft in Kontakt steht. Dies gilt vor allem bei Reagenzsystemen, die Oxidationsschritte mit Hilfe des Luftsauerstoffs enthalten.

Figur 4 zeigt einen Aufbau des Testfeldes, wie er für ein Testsystem geeignet ist, welches unabhängig vom Luftsauerstoff funktioniert. Die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht 1 ist dabei auf eine durchsichtige Kunststoffolie 10 beschichtet.

Figur 5 zeigt die Ausführungsform, bei der die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht auf einer mikroporösen Kunststoffschicht (Membran) 11 beschichtet ist. Die Membran ist vorzugsweise - wie dargestellt - der Blutaußenseite 7 zugewandt.

Die folgenden Beispiele dienen der weiteren Erläuterung der Erfindung.

Beispiel 1:

Zur Herstellung einer Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht zur quantitativen Analyse von Glucose aus Vollblut wird eine Dispersion folgender Zusammensetzung hergestellt:

Rezeptur:

	Einwaage (g)	
	absolut	Feststoff- gehalt
Polyvinylpropionat (PVP)-/Poly- vinylacetat (PVA)-Dispersion (50%ig in Wasser)	5 g	(2,5)
Titandioxid-Pulver in Wasser (Aufschlammung 1:1)	10 g	(5,0)
Methylvinylethermaleinsäureanhydrid- Copolymer (Gantrez AN 139; 5%ig in Wasser)	8 g	(0,4)
Kaliumdihydrogenphosphat	0,27 g	(0,3)
Dinatriumhydrogenphosphat-dihydrat	0,28 g	(0,3)
Glucoseoxidase	30 KU	(0,3)
Peroxidase	500 KU	(0,15)
Methylaminobenzthiazolinon- hydrazon (MBTH)	0,2 g	(0,2)
3-Dimethylamino-benzoesäure	0,2 g	(0,2)
Wasser dest.	4,0 g	
Natriumhydroxid	0,1 g	(0,1)

Diese Mischung wird auf ein monofiles Polyethylen- oder Nylon-Gewebe von ca. 0,05 mm Dicke mit Hilfe eines Rakels (Rakelspalt ca. 0,08 mm) aufgebracht und unmittelbar anschließend mit Warmluft bei 60° C ca. 30 Minuten berührungsfrei getrocknet.

Die so hergestellte Reagenzschicht zeigt mit glucosehaltigem Blut in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration gut abgestufte blaue Reaktionsfarben, welche mit einem Remissinsphotometer bei 565 nm vermessen werden können. Eicht man das Meßgerät mit dem Leerwert der Reaktions

schicht auf 100% Remission und mit einer schwarzen Folie auf 4% Remission, werden für die entsprechenden Glucosekonzentrationen im Blut folgende Remissionen erhalten:

Glucose in Blut
mg/dl

0	100%
40	81%
80	67%
100	62%
300	39%
400	34%
500	30%
600	26%

In Figur 6 sind vier verschiedene Spektren von remissionsphotometrischen Messungen dargestellt, bei denen die Remission (in %) gegen die Wellenlänge (in Nanometer) dargestellt ist. Die Spektren a, b und c beziehen sich auf Testfelder gemäß Beispiel 1 mit einer glucosefreien Probe (a), einem Glucosegehalt von 30 mg/dl (b) und einem Glucosegehalt von 700 mg/dl (c). Man erkennt, das typische Absorptionsminimum des Indikators MBTH. Die Differenz zwischen dem Spektrum a und den Spektren b beziehungsweise c bei der gewählten Meßwellenlänge stellt das Nutzsignal dar.

Spektrum d betrifft einen Fall, bei dem die Probe wie bei Beispiel b 30 mg/dl Glucose enthält, jedoch mit einer Nachweisschicht gearbeitet wird, bei der die Blutfarbstoffabtrennung unvollständig ist. Der rote Blutfarbstoff führt zu einem ausgeprägtem Minimum in dem für die Messung wichtigen Bereich. Es ist offensichtlich, daß hierdurch eine nicht tolerierbare Verfälschung des Meßsignals resultiert.

Beispiel 2:

Um den Einfluß verschiedener Konzentrationen an Pigment und Filmbildner auf die Blutfarbstoffabtrenneigenschaft zu testen, wurde die Rezeptur von Beispiel 1 hinsichtlich des Gehaltes dieser beiden Komponenten variiert.

Die Ergebnisse sind in Figur 7 dargestellt, wobei auf der Abszisse das Feststoffgewicht des Pigments P und auf der Ordinate das Feststoffgewicht des Filmbildners F aufgetragen ist. Die offenen Kreise bezeichnen Zusammensetzungen, bei denen keine befriedigende Blutfarbstoffabtrenneigenschaft erreicht wurde, während die Pluszeichen Zusammensetzungen mit befriedigender Funktion bezeichnen. Die Sternzeichen bezeichnen Zusammensetzungen, bei denen zwar eine ausreichende Abtrennung von Erythrozyten erreicht wird, die strahlungsblockierenden Eigenschaften der Schicht jedoch unzureichend sind. Das Wertepaar des Beispiels 1 ist durch ein eingekreistes Pluszeichen gekennzeichnet. Es zeichnet sich durch eine besonders gute Blutfarbstoff-Abtrennwirkung aus.

Die Ergebnisse zeigen, daß keine gute Abtrennwirkung erreicht wird, wenn sowohl die eingesetzte Menge Pigment als auch die eingesetzte Menge Filmbildner sehr klein ist. Ein befriedigendes Ergebnis kann sowohl durch Erhöhung des Pigmentanteils als auch durch Erhöhung des Filmbildneranteils erreicht werden. Besonders gute Ergebniss werden erreicht, wenn beide in einem etwa ausgewogenen Verhältnis zueinander stehen und ihre Gesamtmenge in der schichtbildenden Rezeptur ausreichend hoch ist.

Beispiel 2a:

Um den Einfluß verschiedener Quellmittel zu dokumentieren, wurde in der Rezeptur von Beispiel 1 das Gantrez AN 139 ersetzt durch Keltrol F (Hersteller: Kelco/Ail International GmbH, Hamburg, Deutschland). Die nachfolgende Tabelle zeigt für beide Rezepturen den Verlauf der gemessenen diffusen Reflexion (% Rem) für zwei verschiedene Blutproben. Man erkennt, daß bei Verwendung des Quellmittels Gantrez AN 139 sich bereits nach 30 Sekunden ein stabiler Wert einstellt, der sich in den folgenden 30 Sekunden nicht ändert. Bei Verwendung von Keltrol F ist die Annäherung an den Endwert langsamer. Auch hier ist jedoch bei geeigneter Eichung eine zuverlässige Messung nach weniger als einer Minute mit guter Genauigkeit möglich.

	Zeit seit Probenaufgabe (sec)	Blut 1 (%) Rem.	Blut 2
Keltrol F	10	52.8	36.7
	20	47.2	23.1
	30	45.9	18.7
	40	44.8	17.2
	50	44.2	16.5
	60	44.0	16.3
Gantrez AN 139	10	45.4	22.2
	20	44.6	17.6
	30	44.1	16.9
	40	44.0	16.2
	50	44.0	16.2
	60	44.0	16.2

Mit weniger gut quellenden Quellmitteln, beispielsweise dem vielfach in Testschichtrezepturen eingesetzten Alginat, werden keine vergleichbar guten Ergebnisse erreicht.

Beispiel 3:

Herstellung eines Testfeldes für einen Testträger zum Nachweis von Triglyceriden in Blut.

Rezeptur:

	Einwaage (g)	
	absolut	Feststoff- gehalt
Polyvinylpropionat-Dispersion (50%ig in Wasser)	7 g	(3,5)
Titandioxid	4 g	(4,0)
Keltrol F (0,5 %ig in H ₂ O)	27 g	(0,15)
Adenosin-5'-triphosphat, di-Natriumsalz	60 mg	(0,06)
Magnesiumsulfat-7-hydrat	60 mg	(0,06)
Dioctylnatriumsulfosuccinat	100 mg	(0,1)
1-(4-Methylphenyl)-semicarbazid	1,5 mg	(0,002)
Detergens Triton X-100	200 mg	(0,2)
Cholesterinesterase	3 KU	(0,25)
Glycerinphosphatoxidase	0,8 KU	(0,01)
Glycerokinase	3 KU	(0,15)
Peroxidase	500 MU	(0,15)
4(5)-(4-Dimethylamino-phenyl)-2- (4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-5(4)- methylimidazol x HCl	50 mg	(0,05)
Phosphatpuffer 0,2M / pH7,5	4 g	(0,05)

Aus den Rezepturkomponenten wird eine homogene Beschichtungsmasse hergestellt. Der pH-Wert wird kontrolliert und erforderlichenfalls auf pH 7,5 korrigiert. Unmittelbar danach wird die Masse in ein multifiles Polyethylengewebe (Dicke ca. 0,04 mm) in einer Naßfilmdicke von ca. 0,06 mm gerakelt und bei 50° C in einem Umlufttrockenschrank ca. 60 Minuten getrocknet.

Bei der Analyse von Triglycerid-haltigen Blutproben werden gut abgestufte Blaufärbungen im Konzentrationsbereich 50 bis 300 mg/dl erhalten, die bei 660 nm remissionsphotometrisch ausgewertet werden können.

Beispiel 4:

Um die Brauchbarkeit verschiedener Pigment-Substanzen zu testen wurde die Rezeptur von Beispiel 1 hinsichtlich des Pigments abgewandelt und Versuche mit verschiedenen Konzentrationsverhältnissen gemacht. In der folgenden Tabelle sind die Trockensubstanz-Gewichte von Rezepturen angegeben, die erprobt wurden und zufriedenstellende Blutfarbstoffabtrenneigenschaften aufweisen:

Polyvinylpropionat	Bariumsulfat
5 g	10 g
5 g	1 g
Polyvinylpropionat	Orgasol 2002
5 g	10 g
5 g	1 g

Das Bariumsulfat hatte eine mittlere Teilchengröße von 0,6 μm (Hersteller: Merck, Darmstadt, Deutschland).

Orgasol 2002 ist ein Polyamid-Partikelpulver mit Pigmenteigenschaften, welches von der Firma Atochem, Elf-Aquitaine, Ortez, Frankreich, hergestellt wird. Die mittlere Teilchengröße liegt bei 0,4 μm .

Beispiel 5:

Herstellung eines Reagenzfilms zum reduktiven Nachweis von Glucose.

Rezeptur:

	Einwaage (g)	
	absolut	Feststoffgehalt
Keltrol F (Hersteller: Kelco/Ail International GmbH, Hamburg, Deutschland)		
2%ig gelöst in Citratpuffer 0,5 M/pH 7	20 g	(0,4)
Titandioxid in Citratpuffer 0,5 M/pH (Aufschlammung 1:1)	40 g	(20,0)
Polyvinylpropionat (PVP)-/Polyvinylacetat (PVA) (Dispersion 50%ig in Wasser)	5 g	(2,5)
Natriumnonylsulfatlösung (15%ig in Wasser)	3 g	(0,4)
Tartrazin (Hersteller: Merck)	2 g	(2,0)
Tetraethylammoniumchlorid	7 g	(7,0)
2,18-Phosphormolybdaensäure	16 g	(16,0)
Kollidon 25 (Hersteller: BASF, Ludwigshafen, Deutschland)	2 g	(2,0)
N,N-Bis-hydrxyethyl-p-nitroso-anilin	140mg	(0,140)
GOD	2 g	(2,0)
Wasser	40 g	-

Die Rezeptur wird homogenisiert und auf eine Folie aus Pokalon (Hersteller: Lonza, Schweiz) in einer Dicke von 0,1 mm aufgerakelt. Anschließend wird bei 60° C getrocknet. Der erhaltene Reagenzfilm zeigt ausgezeichnete Erythrozyten-Abtrenneigenschaften und eine intensive Farbbildung in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration.

Dieses Beispiel zeigt, daß sich eine erfindungsgemäße Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht auch in Fällen

herstellen läßt, bei denen aufgrund spezifischer Besonderheiten des Tests die löslichen Bestandteile des Reagenzsystems in verhältnismäßig hoher Konzentration vorhanden sein müssen. Im vorliegenden Fall liegt das summierte Trockengewicht der Indikatorkombination aus Tetraethylammoniumchlorid und 2,18-Phosphormolybdänsäure etwa in der gleichen Größenordnung wie das summierte Trockengewicht von Pigment und Filmbildner.

Ansprüche

1. Testträger zur Bestimmung eines Analyten aus Vollblut mit Hilfe eines in dem Testträger enthaltenen Reagenzsystems, welches ein Farbbildungsreagenz einschließt, mit einem Testfeld (5),
welches eine Probenaufgabeseite (7), auf der die Blutprobe zugeführt wird und eine Nachweisseite (8), auf der infolge der Reaktion des Analyten mit dem Reagenzsystem eine optisch nachweisbare Veränderung stattfindet, aufweist, und
welches so ausgebildet ist, daß in der Probe enthaltende Erythrozyten nicht auf die Nachweisseite gelangen, wobei
das Testfeld (5) eine Filmschicht als kombinierte Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht (1) aufweist, welche
aus einer Dispersion oder einer Emulsion eines polymeren Filmbildners gebildet ist, die in homogener Verteilung ein Pigment in einer Konzentration von mindestens 30 Gew-%, bezogen auf den Feststoffgehalt der filmbildenden Masse, den polymeren Filmbildner, das Farbbildungsreagenz und ein Quellmittel enthält, wobei die Quellfähigkeit des Quellmittels so hoch ist, daß die optisch nachweisbare Veränderung auf der Nachweisseite nach maximal einer Minute meßbar ist.

2. Testträger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die mittlere Dicke der Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht (1) maximal 0,05 mm, bevorzugt maximal 0,025 mm, besonders bevorzugt maximal 0,015 mm, beträgt.
3. Testträger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht (1) in eine offenporige Faserverbundstruktur (2) derartig imprägniert ist, daß sie deren Poren überspannt und somit schließt.
4. Testträger nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die mittlere Porengröße der Faserverbundstruktur (2) zwischen 0,02 und 0,06 mm, vorzugsweise zwischen 0,03 und 0,05 mm beträgt.
5. Testträger nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht (1) auf eine mikroporöse Kunststoffschicht (11) beschichtet ist.
6. Testträger nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß die mikroporöse Kunststoffolie (11) der Proben- aufgabeseite (7) des Testträgers zugewandt ist.
7. Testträger nach einem der Ansprüche 5 oder 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß die mikroporöse Kunststoffolie (11) eine asymmetrische Struktur hat und Erythrozyten zumindest teilweise abtrennt.
8. Testträger nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Blutfarbstoffabtrenn- und Nachweisschicht (1) auf eine Kunststoffolie (10) beschichtet ist.

1 / 3

Fig. 1

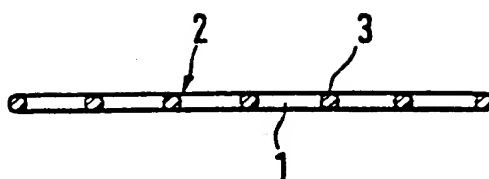


Fig. 2

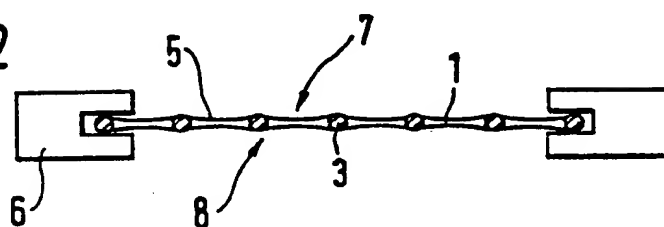
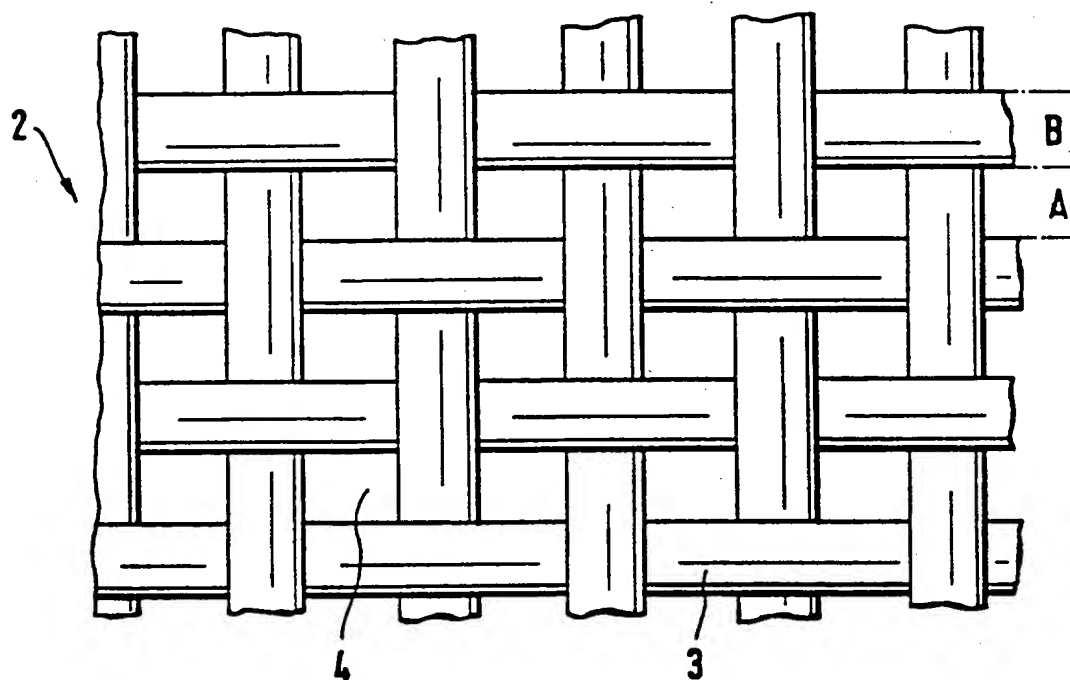


Fig. 3



2 / 3

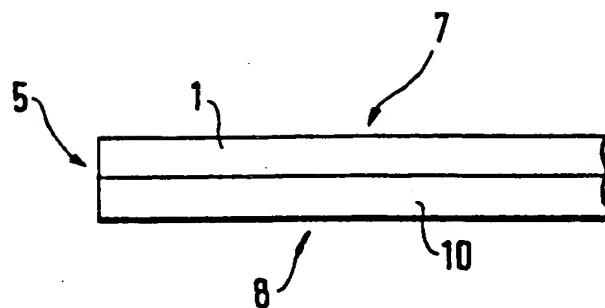


Fig. 4

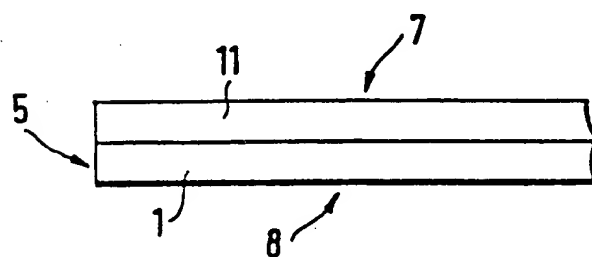
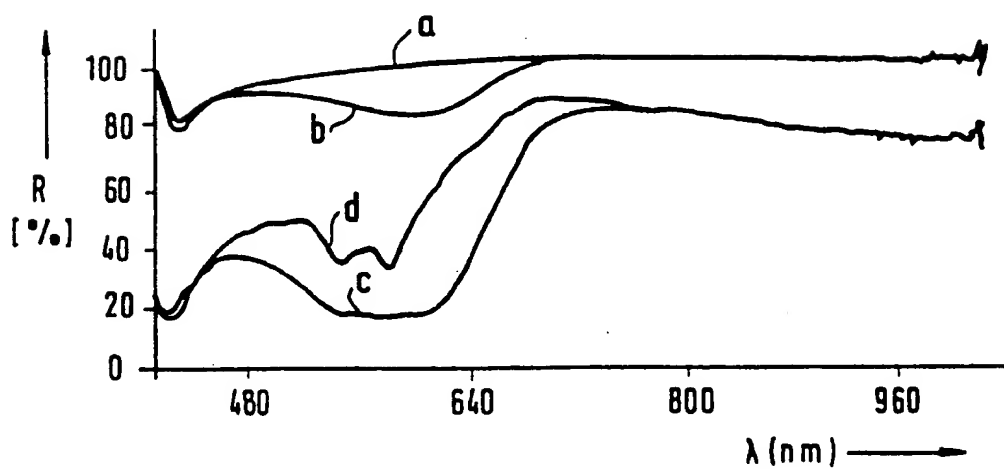


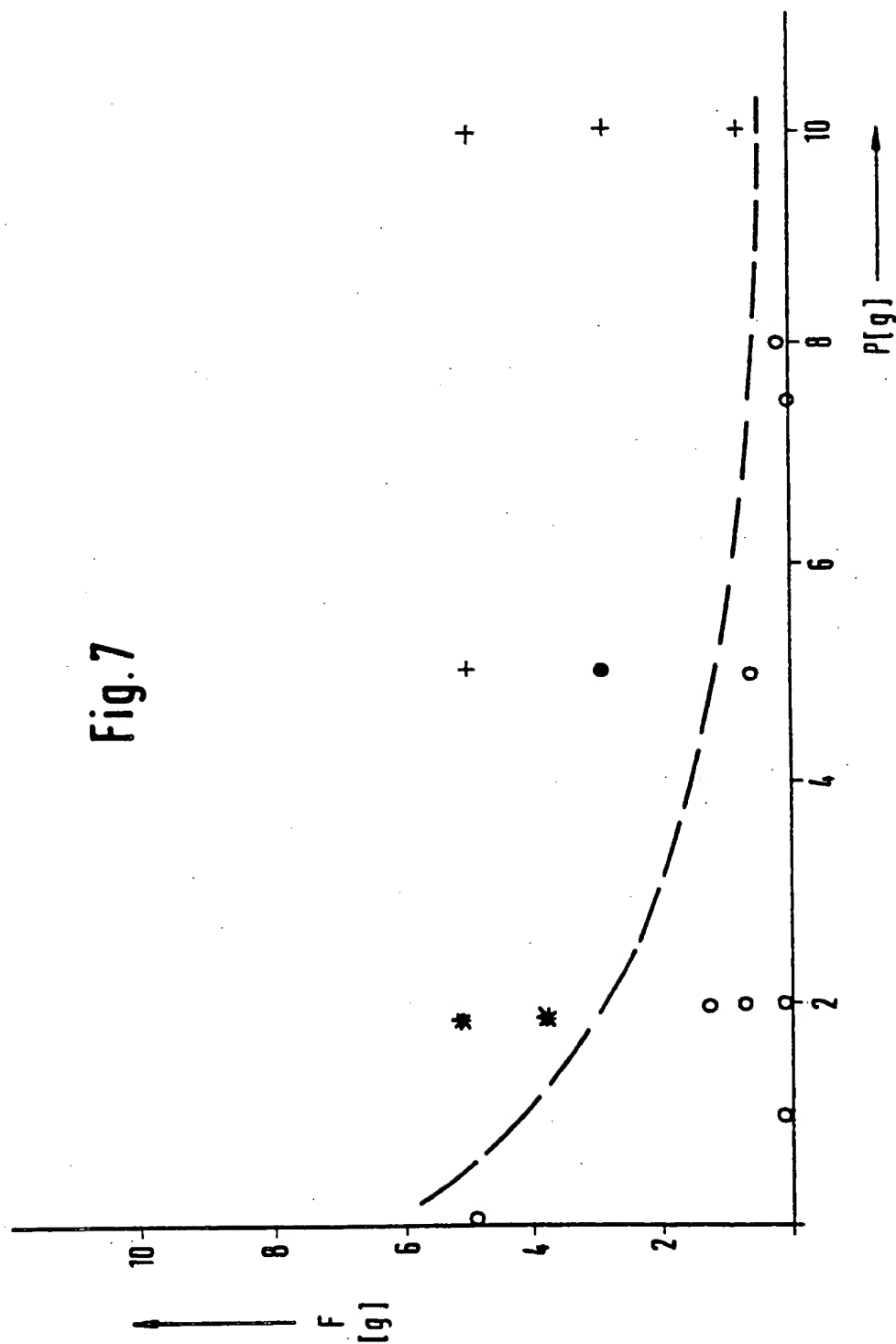
Fig. 5

Fig. 6



3/3

Fig. 7



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/DE 92/00154

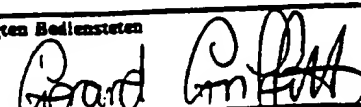
I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) ⁶		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int.Cl.5	G01N33/52	
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
Int.Cl.5	G01N	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are included in the Fields Searched ⁸		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹		
Category ⁹	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
A	EP,A,0 302 287 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 8 February 1989 (cited in the application) see the whole document	1-8
A	EP,A,0 256 806 (LIFESCAN, INC.) 24 February 1988 see abstract; claims see page 1 - page 4	1-8
A	EP,A,0 274 911 (PALL CORPORATION) 20 July 1988 see the whole document	1-8
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>¹⁰ Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
03 June 1992 (03.06.92)	10 June 1992 (10.06.92)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
EUROPEAN PATENT OFFICE		

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

DE 9200154
SA 56727

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 03/06/92

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-0302287	08-02-89	DE-A- 3725766	16-02-89
		AU-B- 588509	14-09-89
		AU-A- 2030088	09-02-89
		JP-A- 1054354	01-03-89
EP-A-0256806	24-02-88	US-A- 4935346	19-06-90
		AU-B- 603821	29-11-90
		AU-A- 7675887	18-02-88
		CN-A- 1050930	24-04-91
		EP-A- 0479394	08-04-92
		EP-A- 0473241	04-03-92
		JP-A- 63101757	06-05-88
		US-A- 5059394	22-10-91
		US-A- 5049487	17-09-91
EP-A-0274911	20-07-88	GB-A- 2199946	20-07-88
		JP-A- 63180857	25-07-88

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int.Kl. 5 G01N33/52		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierte Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Kl. 5	G01N	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art. ⁶	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
A	EP,A,O 302 287 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 8. Februar 1989 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument ---	1-8
A	EP,A,O 256 806 (LIFESCAN, INC.) 24. Februar 1988 siehe Zusammenfassung; Ansprüche siehe Seite 1 - Seite 4 ---	1-8
A	EP,A,O 274 911 (PALL CORPORATION) 20. Juli 1988 siehe das ganze Dokument ----	1-8
<p>° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"A" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts	
03. JUNI 1992	10. 06. 92	
Internationale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten	
EUROPAISCHES PATENTAMT	GRIFFITH G. 	

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

DE 9200154
SA 56727

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

03/06/92

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A-0302287	08-02-89	DE-A- 3725766	16-02-89
		AU-B- 588509	14-09-89
		AU-A- 2030088	09-02-89
		JP-A- 1054354	01-03-89
EP-A-0256806	24-02-88	US-A- 4935346	19-06-90
		AU-B- 603821	29-11-90
		AU-A- 7675887	18-02-88
		CN-A- 1050930	24-04-91
		EP-A- 0479394	08-04-92
		EP-A- 0473241	04-03-92
		JP-A- 63101757	06-05-88
		US-A- 5059394	22-10-91
		US-A- 5049487	17-09-91
EP-A-0274911	20-07-88	GB-A- 2199946	20-07-88
		JP-A- 63180857	25-07-88

EPO FORM P0473

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82